

7. Ierusalimov E.N. Zoogenic defoliation and forest community. Moscow: Partnership of scientific publications KMK, 2004. 263 s.
  8. Ierusalimov E.N. The change in land cover in the focus of mass raznoetion of pine looper // Ecology. 1991. № 5. С. 56–62.
  9. Baranchikov Yu.N., Perevoznikova V.D. Centers of mass outbreaks of the Siberian silkworm as sources of additional carbon emissions // Readings in memory of V.N. Sukachev. XX. Insects in forest biogeocenoses. Moscow: Partnership of scientific publications KMK, 2004. P. 32–53.
  10. Perevoznikova V.D., Baranchikov Yu.N. The structure of the terrestrial phytomass stocks fresh chalcoprateia fir taiga, Lower Angara region // Entomological studies in Siberia. Krasnoyarsk: KF, 2002. Release. 2. P. 166–180.
  11. Antipkina I.I. The dynamics of grass cover in birch forests damaged by Gypsy moth caterpillars (*Lymantria dispar* L.) on the South of the Tyumen region. Author's abstract of candidate of biological Sciences. Tyumen, 2006. 24 p.
  12. Mirkin G.S., Rozenberg L.G., Naumova B.M. Dictionary of concepts and terms of modern phytocenology. M.: Science, 1989. 223 p.
- 

УДК 630\*174.754:631.466.12:632.95

### **МИКОРИЗАЦИЯ КОРНЕЙ У ОДНОЛЕТНИХ СЕЯНЦЕВ СОСНЫ В ЛЕСНОМ ПИТОМНИКЕ В УСЛОВИЯХ ПЕСТИЦИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

С.К. СТЕЦЕНКО – кандидат биологических наук,  
научный сотрудник лаб. лесовосстановления,  
защиты леса и лесопользования,  
e-mail: stets\_s@mail.ru, 620134\*

Е.М. АНДРЕЕВА – кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник лаб. лесовосстановления,  
защиты леса и лесопользования,  
e-mail: e\_m\_andreeva@mail.ru\*

Г.Г. ТЕРЕХОВ – доктор сельскохозяйственных наук,  
ведущий научный сотрудник лаб. лесовосстановления,  
защиты леса и лесопользования,  
e-mail: terekhov\_g\_g@mail.ru\*

\* ФБГУН Ботанический сад Уральского отделения РАН, 620134,  
Екатеринбург, ул. Билимбаевская, 32а;  
тел.: +7(343) 322-56-31

**Ключевые слова:** микориза, сосна, сеянцы сосны, биоремедиация, пестициды, раундап, глифосат, лесной питомник, лесная подстилка.

Применение пестицидов при выращивании сосны (*Pinus sylvestris* L.) приводит к загрязнению почвы лесного питомника их остаточными количествами и метаболитами, которые долго остаются в почве и оказывают отрицательное воздействие на выращиваемую породу, приводя к появлению значительной доли тератоморфных сеянцев в посеве. Перспективным и экономически обоснованным способом очищения загрязненной почвы может стать метод биоремедиации путем микробиологического разложения

пестицида комплексом сапрофитов, входящих в состав лесной подстилки. Исследования проводили в полевом эксперименте, целью которого было изучение процессов микоризообразования корневой системы сосны при проведении биоремедиации загрязненной пестицидами почвы путем интродукции естественного микробоценоза в почву лесного питомника. В задачу исследования входило определение степени заселения корневых окончаний однолетних сеянцев микоризными грибами при внесении лесной подстилки в почву питомника и сравнение этого показателя с контрольным вариантом (без добавления подстилки) при наличии пестицидного загрязнения и без него.

Установлено, что как у нормальных, так и у аномальных сеянцев наблюдалось увеличение плотности микориз при внесении лесной подстилки в варианте без добавления пестицида. Также лесная подстилка привела к увеличению количества сосущих корней (в варианте подстилка+раундап не столь значимое, как без раундапа), которые можно рассматривать как центры потенциального микоризообразования. Снижение интенсивности микоризации отмечено в варианте с раундапом и добавлением лесной подстилки в отличие от этого показателя в контроле. Низкая скорость микробиологической трансформации раундапа естественным микробоценозом вследствие неблагоприятных погодных факторов (недостаток влаги в вегетационный период) оказывает отрицательное воздействие на формирование микоризы.

Тератоморфные растения отстают по показателям микоризации от нормальных сеянцев во всех вариантах, во многих случаях это различие достоверно.

## MYCORRHIZATION OF ROOTS IN ONE-YEAR-OLD PINE SEEDLINGS IN FOREST NURSERY AT PESTICIDE CONTAMINATION OF SOIL

S.K. STETSENKO – candidate of biological sciences, researcher,  
e-mail: stets\_s@mail.ru \*

E.M. ANDREEVA – candidate of biological sciences, senior researcher,  
e-mail: e\_m\_andreeva@mail.ru \*

G.G. TEREKHOV – doctor of agricultural science, leading researcher,  
e-mail: terekhov\_g\_g@mail.ru \*

\* Botanical Garden, Ural Branch of Russian Academy of Sciences,  
620134, Yekaterinburg, ul. Bilimbaevskaya, 32a;  
Phone: +7(343) 322-56-31

**Key words:** *mycorrhiza, pine, seedling, pesticide, roundup, glyphosate bioremediation, forest nursery, forest litter.*

The use of pesticides at cultivation of pine (*Pinus sylvestris* L.) leads to contamination of the forest nursery soil with their residues that remain in the soil for a long time and have a negative impact on young trees, leading to a significant number of teratmorph seedlings in the crop. Bioremediation with use the microbiological degradation of a pesticide by the complex of saprophytes that inhabit the forest litter presents as a promising and economically profitable method for treating contaminated soil. The research was carried out in a field experiment to study the mycorrhiza relationships on the pine roots at bioremediation by introducing a natural forest microbiocenosis into the contaminated with pesticides soil of a forest nursery. The task of the study was to determine the degree of colonization of root tips with mycorrhizal fungi in the one-year-old seedlings when the litter was applied to the nursery soil and compare this indicator with the control variant (without adding litter), in the presence of pesticide contamination and without it. It was found that both normal and abnormal seedlings showed an increase in mycorrhizae density when applying forest litter in variant without adding pesticide. Also, the forest litter led to an increase in the number of root tips (in the

variant «litter + roundup», not as significant as without a roundup), which can be considered as centers of potential mycorrhiza association. The decrease in mycorrhiza intensity was noted in the variant with addition of forest litter at presence of roundup. Such decreasing was not observing in control variant with pesticide contamination. The low rate of microbiological transformation of the roundup by the natural microbiocenosis due to unfavorable weather factors (not sufficiently moisture during the growing season) has a negative effect on the mycorrhizae relationships formation. Teratomorph trees fall behind from normal seedlings in all variants at mycorrhiza formation

### Введение

Вопросы эффективного и доступного метода борьбы с загрязнением почвы пестицидами и их остаточными количествами обсуждаются во многих научных работах. Актуальность разработки приемов оздоровления почвы лесных питомников обусловлена проблемами снижения качества посадочного материала хвойных пород вследствие отрицательного побочного эффекта применения пестицидов при выращивании семян [1].

В последние десятилетия концепция разложения загрязняющих веществ адсорбирующими материалами становится менее актуальна в связи с распространением нового подхода к борьбе с загрязнением природной среды методами биоремедиации, т.е. с использованием потенциальных возможностей живых организмов перерабатывать трудно разлагаемые вредные химические соединения [2, 3, 4]. Хотя в общем смысле под биоремедиацией принято понимать комплекс методов, включающий трансформирующую деятельность различных биологических объектов (растений, микроорганизмов, насекомых и др.), чаще всего под этим способом подразумевают применение особых бактериальных препаратов, специали-

зирующихся на определенном типе загрязнения. Между тем в природе при интенсивной хозяйственной деятельности могут присутствовать многокомпонентные загрязняющие факторы, для ликвидации которых потребуются микроорганизмы с широкой специализацией. В настоящее время проводятся исследования по возможности использования кооперативного действия микроорганизмов, населяющих лесную подстилку, для проведения биоремедиации в лесных питомниках [5]. Преимуществом с точки зрения экономических затрат является близость этого субстрата к питомникам, что делает способ очистки дешевым.

Лесная подстилка служит источником не только свободно функционирующих бактерий и микромицетов, но и микоризообразующих грибов, которые также могут быть одним из факторов биоремедиации [6, 7]. Кроме того, микоризные симбиозы, как известно, значительно улучшают качество жизни хвойных растений, облегчая их питательный режим. Следовательно, использование естественных микробоценозов для очистки почвы лесных питомников от пестицидного загрязнения может стать основой для разработки комплексного метода биореме-

диации, обладающего специфичностью по отношению к хвойным породам: в почве лесного питомника ликвидируется пестицидное загрязнение и создается специализированная среда для выращивания древесных растений.

### Цель, задача, методика и объекты исследования

Исследования проводили в полевом эксперименте, целью которого было изучение процессов микоризообразования корневой системы сосны при проведении биоремедиации загрязненной пестицидами почвы путем интродукции естественного микробоценоза в почву лесного питомника. В задачу исследования входило определение степени заселения корневых окончаний однолетних семян микоризными грибами при внесении лесной подстилки в почву питомника и сравнение этого показателя с контрольным вариантом (без добавления подстилки) при наличии пестицидного загрязнения и без него.

Для выполнения опытных работ в лесном питомнике Березовского лесничества весной 2016 г. был заложен участок, состоящий из делянок с посевом семян сосны (*Pinus sylvestris* L.). Часть опытных площадок предвари-

тельно обрабатывали раундапом (д.в. глифосат, доза 3 л/га). Затем через 1–2 недели в половину из них согласно схеме опыта вкапывалась лесная подстилка из смешанного насаждения (5С5Б). В отбираемый для переноса в питомник объем подстилки входил нижний начинающий разлагаться слой опада, слой ферментации (F) и слой гумификации (H) [8]. Толщина отобранных слоев вместе – в среднем 5 см. Подстилка вносилась на глубину пахотного слоя 0–15 см. Варианты опыта: 1) смешанная подстилка, 20 кг/м<sup>2</sup> + раундап; 2) раундап; 3) смешанная подстилка, 20 кг/м<sup>2</sup>; 4) контроль.

Выкопку однолетних сеянцев произвели в конце вегетационного сезона. Сеянцы были распределены на две морфологические группы – нормальные, т.е. имеющие нормальный морфологический облик, и тератоморфные – имеющие нарушения в развитии стволика (боковые побеги, многовершинность). Измеряли высоту стволиков, длину главного корня и корней первого

порядка. На последних учитывали число сосущих корневых окончаний. Количество микориз и микоризных окончаний на корнях последнего порядка определяли по методу, предложенному Д.В. Веселкиным [9]. Подсчеты производили под бинокулярной лупой. Для оценки развития процесса микоризации использовались следующие показатели: плотность микориз – количество микориз на 100 мм корня; плотность сосущих окончаний – количество сосущих окончаний на 100 мм корня; интенсивность микоризации – отношение микоризных окончаний к общему количеству сосущих корневых окончаний.

Статистическая обработка материала проводилась в программе Statistica 6.0, достоверность различий средних значений определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты исследования

Вегетационный сезон в 2016 г. (май – сентябрь) отличался следующими особенностями: тем-

пература воздуха в основном была в пределах среднеклиматических значений для региона, за исключением августа, когда она превышала средний многолетний показатель; влажность воздуха и сумма осадков, выпавших в летний период, были ниже, чем средние многолетние значения. В связи с этим с июля по август на участке проводили полив. Относительная влажность почвы на опытных площадках в начале лета в среднем была 23,5%, в конце лета – 18,5%.

У сеянцев сосны первого года были отмечены преимущественно вильчатые микоризы (рис. 1), булавовидные встречались единично.

Определение морфологического облика 1-летних сеянцев сосны показало, что соотношение нормальных и тератоморфных сеянцев как в вариантах, где не было обработки почвы раундапом, так и вариантах, где такая проводилась, было примерно одинаковым (таблица).

Достоверное увеличение доли сеянцев нормального фенотипа



Рис. 1. Формы микоризных окончаний у 1-летних сеянцев сосны  
Figure 1. Root tips with mycorrhizal fungi in the one-year-old seedlings

Распределение по морфологическим группам и биометрические показатели  
1-летних сеянцев сосны на опытном участке  
Morphological groups and size of one-year-old seedlings  
in experimental sites of forest nursery

| Вариант,<br>вид внесенного<br>субстрата<br>Variant  | Высота сеянца, см<br>Seedling height, sm |   | Длина главного корня, см<br>Main root length, sm |   | Доля сеянцев, %<br>Percentage of seedlings, % |   |
|---|--|---|--|---|---|---|
|   | Нормальный<br>фенотип<br>Normal          | Тератоморфный<br>фенотип<br>Teratomorph | Нормальный<br>фенотип<br>Normal                  | Тератоморфный<br>фенотип<br>Teratomorph | Нормальный<br>фенотип<br>Normal               | Тератоморфный<br>фенотип<br>Teratomorph |
| Опытные площадки без обработки пестицидом<br>Experimental plots without pesticide treatment                                 |  |   |  |   |   |   |
| Лесная подстилка,<br>20 кг/м <sup>2</sup><br>Forest litter,<br>20 kg/m <sup>2</sup>   | 5,3 ± 0,29aA                             | 4,7 ± 0,26aA                            | 11,0 ± 0,42aA                                    | 7,1 ± 0,77bA                            | 74  | 26                                      |
| Контроль<br>Control   | 3,7 ± 0,18aB                             | 2,6 ± 0,16bB                            | 13,5 ± 0,66aB                                    | 14,1 ± 0,54aB                           | 48  | 52                                      |
| Опытные площадки с обработкой пестицидом (раундап, 3 л/га)<br>Experimental plots with pesticide treatment (roundup, 3 l/ha) |  |   |  |   |   |   |
| Лесная подстилка,<br>20 кг/м <sup>2</sup><br>Forest litter,<br>20 kg/m <sup>2</sup>   | 2,8 ± 0,14aA                             | 2,4 ± 0,20aA                            | 13,2 ± 0,44aA                                    | 13,7 ± 0,75aA                           | 73  | 27                                      |
| Контроль<br>Control   | 3,0 ± 0,23aA                             | 2,2 ± 0,26bA                            | 9,9 ± 0,35aB                                     | 10,0 ± 0,73aB                           | 60  | 40                                      |

Примечание. Разными буквами отмечены достоверные различия ( $P < 0,05$ ) показателей внутри строк между аномальным и тератоморфным фенотипами (маленькие буквы *a*, *b*) и между лесной подстилкой и контролем (большими буквами *A*, *B*) внутри вариантов с обработкой и без обработки пестицидами.

по сравнению с таковой на контроле наблюдается при внесении лесной подстилки как в варианте с обработкой раундапом ( $\chi^2 = 7,04$ ,  $P < 0,05$ ), так и без нее ( $\chi^2 = 27,08$ ,  $P < 0,05$ ). Стоит отметить, что аномальностью развития стволика считалось только наличие дополнительных побегов. Отклонение в развитии сеянцев, связанное с нарушением соотношений длин стволика и хвои, возможно лишь во второй и последующие годы роста, и доля таких сеянцев выявляется позже [1]. Судя по тому, что сеянцы в вариантах с обработкой раундапом имели более низкие показатели роста, процесс разложения загрязнения

в 2016 г. был затруднен в связи с неблагоприятными погодными условиями для микробиологической трансформации.

Присутствие свободной фракции раундапа также негативно повлияло на скорость образования симбиотических отношений между сеянцами и грибами (см. таблицу, рис. 2). Существенное увеличение плотности микориз как у нормальных, так и у аномальных сеянцев наблюдалось при внесении лесной подстилки в варианте без добавления пестицида. Также наличие лесной подстилки приводит к увеличению количества сосущих корней (в варианте

подстилка+раундап не столь значимое, как без раундапа), что некоторые авторы считают процессом потенциального микоризообразования [10]. Присутствие раундапа в почве привело к снижению интенсивности микоризации в варианте с добавлением лесной подстилки в отличие от этого показателя в контрольном варианте.

В целом анализ развития микориз у сеянцев сосны показал, что тератоморфные растения отстают по изученным показателям этого процесса от нормальных сеянцев во всех вариантах, и во многих случаях это различие достоверно (рис. 2).



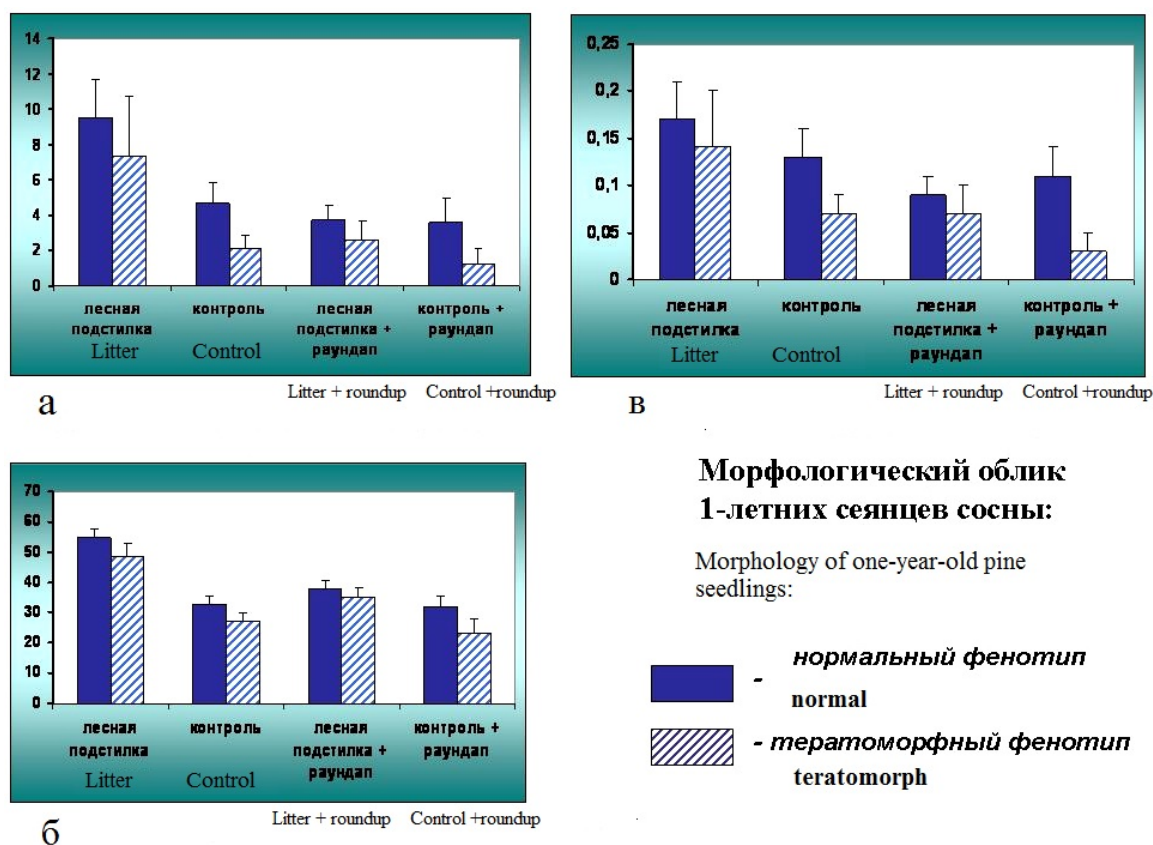


Рис. 2. Характеристика микоризообразования у 1-летних сеянцев сосны.

На рисунке представлены данные в виде среднего арифметического со стандартной ошибкой:

а – плотность размещения микориз, шт. на 100 мм проводящих корней;

б – плотность размещения сосущих корней, шт. на 100 мм проводящих корней; в – интенсивность микоризации

Figure 2. Characteristics of mycorrhiza formation in 1-year-old pine seedlings.

The figure presents data in the form of an arithmetic mean with a standard error:

а – density root tips with mycorrhizae, pieces per 100 mm of roots;

б – density root tips, pieces per 100 mm of roots; в – mycorrhizae intensity

### Вывод

Установлено, что увеличение микрофлоры в ризосфере путем внесения естественного микробоценоза в почву лесного питомника повышает плотность микориз и количество сосущих корешков у сеянцев сосны, которые можно рассматривать как «потенциальные микоризы». Таким образом, внесение естественного микробоценоза в со-

ставе лесной подстилки создает условия для развития микоризных ассоциаций, улучшает среду для выращивания стандартного посадочного материала, что отражается на показателях роста сосны.

Погодные условия вегетационного периода (прежде всего влажность) оказывают влияние на адаптацию естественного комплекса микроорганизмов

и его активность по разложению пестицидного загрязнения в почве лесного питомника. Снижение микробиологической трансформации раундапа вследствие неблагоприятных климатических факторов приводит к наличию в почве свободной фракции пестицида, что может оказывать отрицательное воздействие на формирование микоризы.

### Библиографический список

1. Фрейберг И.А., Ермакова М.В., Стеценко С.К. Модификационная изменчивость сосны обыкновенной в условиях пестицидного загрязнения. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 74 с.
2. Karpouzias D.G. Singh B.K. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis // Advances in Microbial Physiology. 2006. Vol. 51. P. 119–185.

3. Использование потенциала микробных сообществ для биоремедиации почв, загрязненных пестицидами / Л.Н. Пароменская, Ю.В. Круглов, В.В. Думова, М.В. Гамова // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: матер. Междунар. науч. конф. (Минск, 2–6 июня 2008 г.) В 2 т. Минск: Изд-во И.П. Логвинов, 2008. Т. 2. С. 29–31.
4. Разработка и полевые испытания технологий биоремедиации территорий, загрязненных токсичными химическими веществами / Г.А. Жариков, А.И. Марченко, О.А. Крайнова, В.В. Капранов, М.Г. Жариков // Медицина экстремальных ситуаций. 2013. № 2 (44). С. 41–51.
5. Фрейберг И.А., Стеценко С.К. Биологические параметры очистки почв от пестицидной токсичности // Экология и промышленность России. 2013. № 2. С. 40–42.
6. Meharg A.A., Cairney J.W.G. Ectomycorrhizas – extending the capacities of rhizosphere remediation? // Soil Biology and Biochemistry. 2000. V. 32. P. 1475–1484.
7. Rajtor M., Piotrowska-Seget Z. Prospects for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to assist in phytoremediation of soil hydrocarbon contaminants // Chemosphere. 2016. Vol. 162. P. 105–116.
8. Почвоведение. В 2 ч. / под ред. В.А. Ковды, Б.Г. Розанова. М.: Высш. шк., 1988. 400 с.
9. Веселкин Д.В. Функциональное значение микоризообразования у однолетних сеянцев сосны и ели в лесных питомниках // Вестник ОГУ. 2006. № 4. С. 12–18.
10. Бойко Т.А. Особенности микоризообразования и роста сеянцев хвойных пород в лесных питомниках Пермского края: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Бойко Т.А. Пермь, 2006. 18 с.

### *Bibliography*

1. Freiberg I.A., Yermakova M.V., Stetsenko S.K. Modification forms of pine under conditions of pesticide contamination. Yekaterinburg : Ural Branch of RAS, 2004. 74 p.
  2. Karpouzas D.G., Singh B.K. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis // Advances in Microbial Physiology. 2006. Vol. 51. P. 119–185.
  3. Use of the potential of microbial communities for bioremediation of soils contaminated with pesticides / L.N. Paromenskaya, Y.V. Kruglov, V.V. Dumova, M.V. Gamova // Modern state and prospects for the development of microbiology and biotechnology: Meeting materials. Minsk, 2008. Vol. 2. P. 29–31.
  4. Development and field trials of the technology for bioremediation of the territories contaminated by toxic chemicals / G.A. Zharikov, A.I. Marchenko, O.A. Krainova, V.V. Kapranov, M.G. Zharikov // Medicine of Extreme Situations. 2013. No. 2 (44). P. 41–51.
  5. Freiberg I.A., Stetsenko S.K. Biological parameters of soil purification from pesticidal toxicity // Ecology and Industry of Russia. 2013. No. 2. P. 40–42.
  6. Meharg A.A., Cairney J.W.G. Ectomycorrhizas – extending the capacities of rhizosphere remediation? // Soil Biology and Biochemistry. 2000. V. 32. P. 1475–1484.
  7. Rajtor M., Piotrowska-Seget Z. Prospects for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to assist in phytoremediation of soil hydrocarbon contaminants // Chemosphere. 2016. Vol. 162. P. 105–116.
  8. Pedology. In 2 vol. / by V.A. Kovda, B.G. Rozanov. Moscow: Vysshaya shkola, 1988. 400 p.
  9. Veselkin D.V. The functional significance of mycorrhiza formation in one-year-old pine and spruce seedlings in forest nurseries // Vestnik of the Orenburg State University. 2006. No. 4. P. 12–18.
  10. Boiko T.A. Features of mycorrhiza formation and the coniferous seedlings growth in forest nurseries of Perm Krai : thesis...cand. agricultural sciences: Perm, 2006. 18 p.
-